

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑬ 公開特許公報 (A) 平4-121652

⑭ Int. Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑮ 公開 平成4年(1992)4月22日

G 01 N 27/327  
27/416

7235-2J G 01 N 27/30  
7235-2J  
7235-2J  
7235-2J  
6923-2J 27/46

3 5 1  
3 5 3 B  
3 5 3 R  
3 5 3 U  
3 3 6 G

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全4頁)

⑯ 発明の名称 バイオセンサ

⑰ 特 願 平2-241311

⑱ 出 願 平2(1990)9月13日

⑲ 発 明 者 大 熊 廣 一 埼玉県上福岡市福岡2丁目1番1号 新日本無線株式会社  
川越製作所内

⑳ 出 願 人 新日本無線株式会社 東京都目黒区下目黒1丁目8番1号

明 細 書

1. 発明の名称

バイオセンサ

2. 特許請求の範囲

(1) 少なくとも測定極と対極とを有する電極系、および酵素、微生物等の生体関連物質を備え、試料液中の基質と前記生体関連物質との反応により生じる反応生成物の濃度変化を電気化学的に検出するバイオセンサにおいて、

前記測定極および対極の中、少なくとも一方は、導電性もしくは導電処理した基質透過性の多孔体で構成すると共に、該測定極および対極をほぼ同一平面上に配置し、これら両極を挟んで両側に互いに異なる種類の酵素、微生物等の生体関連物質を担持させた多孔体よりなる層を設けたことを特徴とするバイオセンサ。

(2) 請求項第1項記載のバイオセンサにおいて、前記生体関連物質を担持させた多孔体よりなる層に、生体関連物質に加えて酸化型電子受容体をも担持させたことを特徴とするバイオセンサ。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は食品分析、医療分析、環境分析等の分野において、液体状の試料をセンサ部に滴下するだけで微量の、しかも複数の特定成分を定量することができるバイオセンサに関する。

(従来の技術)

従来、環境中や生体試料中の特定成分を複雑な前処理を行なうことなく高精度に測定する手段として、第2図に示すようなバイオセンサが特開昭59-166852号において提案されている。絶縁性基板8にリード線11、12をそれぞれ有する白金などからなる測定極9および対極10を埋設し、それらの電極系の上部を酸化還元酵素を担持させた多孔体13で覆ったものである。試料液を多孔体13に滴下すると、試料液中に酸化還元酵素が溶解し、試料液中の基質との間で酵素反応が進行し過酸化水素が発生する。この過酸化水素を電気化学的に酸化し、この時得られる酸化電流値から試料液中の基質濃度を求めるものである。

BEST AVAILABLE COPY

(発明が解決しようとする課題)

このような従来の構成のバイオセンサでは、本質的には一種類の目的物質の定量しか行なえず、複数種類の酵素を用いたとしても、これらの酵素系から誘導された一種類の目的物質の定量か、あるいは複数種類の目的物質の総量でしか定量することができなかった。従って複数種類の目的物質を分離して検出するには目的物質の種類の数に応じたセンサを用意しなければならなかった。また、大きな電極出力を得るためには、電極表面積を大きくする必要から形状を大きくせざるを得なかった。

本発明は上記問題点を解消し、一組の電極系で複数種類の目的物質の濃度を高感度に検出できるバイオセンサを提供しようとするものである。

(課題を解決するための手段)

上記目的を達成するため本発明は、少くとも測定極と対極とを有する電極系、および酵素、微生物等の生体関連物質を備え、試料液中の基質と前記生体関連物質との反応により生じる反応生成物

れに対応する試料液中の基質との反応が、上記上側の層における反応より遅れて開始する。

このように反応開始時刻に時間差を生じるので、それぞれの反応開始時刻に対応して電極系に逐次パルス電圧を印加すると、まず第1のパルス電圧により上側の多孔体に担持させた生体関連物質に対応する基質の濃度に比例する応答電流が、次に第2のパルス電圧により、上記応答電流と、下側の多孔体に担持させた生体関連物質に対応する基質の濃度に比例する電流との和に相当する応答電流が得られる。従って後者の基質の濃度は両応答電流の差として検出することが可能となる。

(実施例)

第1図に本発明の一実施例、グルコース、ビルビン酸センサを示す。同図(a)はその断面図、同図(b)はその主要部の分解図である。1は測定極でありポリエステル基布に白金をスパッタリング(膜厚0.2 $\mu$ m)した導電処理クロスに吸水性高分子を含浸させたもの、2は対極でリボン状カーボン、3はグルコースオキシダーゼを固定化した

の濃度変化を電気化学的に検出するバイオセンサにおいて、前記測定極および対極の中、少なくとも一方は導電性もしくは導電処理した基質透過性の多孔体で構成すると共に、ほぼ同一平面上に配置し、該測定極および対極を挟んで両側に互いに種類の異なる酵素、微生物等の生体関連物質を担持させた多孔体よりなる層を設けた構成としたものである。

また上記構成のバイオセンサにおいて、前記生体関連物質を担持させた多孔体よりなる層に、生体関連物質に加えて酸化型電子受容体をも担持させた構成にしたものである。

(作用)

上記のような構成にすることにより、担持させた生体関連物質に対応する複数の基質を含む試料液を電極系の上側に配置した多孔体の層に滴下すると、該層の生体関連物質とこれに対応する基質との反応は速やかに開始し、一方試料液が基質透過性の電極部を通過して電極系の下側に配置した多孔体の層に達するとこの層の生体関連物質とそ

トリアセチルセルロース膜、4はビルビン酸オキシダーゼを固定化したトリアセチルセルロース膜、5は絶縁性支持体、6および7はそれぞれ測定極1および対極2のリード線である。

上記のように構成したセンサにグルコースとビルビン酸を含む試料液を滴下すると、トリアセチルセルロース膜3において、まず、試料液中のグルコースがグルコースオキシダーゼによって分解され過酸化水素を発生する。一方試料液中のビルビン酸はグルコースオキシダーゼとは反応せず、吸水性高分子を含んだ導電処理クロスよりなる測定極1を通過し、その下側のトリアセチルセルロース膜4に達しここでビルビン酸オキシダーゼによって分解され、過酸化水素を発生する。それぞれの過酸化水素の発生には、時間的遅れが存在するが、試料液滴下直後測定極に対極に対し700mV、パルス幅200msのパルス電圧を印加するとグルコースの分解により最初に発生した過酸化水素が電気化学的に酸化され、酸化に伴う応答電流を生じるのでまずこれを測定する。次にたとえば2秒

後に再び上記と同様なパルス電圧を印加すると、この時点ではビルビン酸の分解による過酸化水素も発生しており、両過酸化水素の濃度の和に対応する応答電流を生じる。この結果第1のパルス電圧による応答電流はグルコースの濃度に、第2のパルス電圧による応答電流はグルコースの濃度とビルビン酸の濃度の和に対応したものとなる。従って両応答電流の差がビルビン酸の濃度に対応したものとしてとらえられる。

#### (発明の効果)

以上説明したように本発明の構成によるバイオセンサは測定極および対極の中、少なくとも一方は基質透過性の多孔体で構成し、電極系を挟んで両側に互いに異なる種類の生体関連物質を担持させた多孔体の層を設けているので、試料液中の基質が電極系を通過する際の時間遅れを利用した検出が可能となり、一組の電極系でありながら、複数種類の基質の濃度を分離測定を行なわせることができる。なお、生体関連物質の種類により反応速度に遅延がある場合は、反応速度の速い生体関

連物質を電極系の前面の多孔体の層に、反応速度の遅い生体関連物質を電極系の背面の多孔体の層に担持させることが分離測定上望ましい。

本発明の電極系の少なくとも一方の電極は、基質透過性の導電性または導電処理した多孔体で構成されることから生体関連物質と基質との反応による反応生成物との接触面積は一般の導体を用いた電極系の場合に較べ著しく大きくなり、形状を大きくすることなく高感度なセンサを作ることができる。

なお上記の実施例では、電気化学的に検出される反応生成物が過酸化水素の場合について説明したが、生体関連物質による酸化反応において溶存酸素が少なく十分な酸化が得られないような場合、また電極電圧の印加により目的外の電気化学的反応による生成物を生じないよう極力印加電圧値を低くしたい場合など、生体関連物質を担持させた多孔体の層に酸化型電子受容体をも担持させる構成が有効である。

例えば生体関連物質として酸化還元酵素を用い

る場合、酸化型電子受容体、フェリシアン化カリウムを共存させると、この電子受容体は、基質との酸化反応に伴って還元型電子受容体、フェロシアン化カリウムに変じ、このフェロシアン化カリウムが前述の過酸化水素と同等な電気化学的役目を果たし、電極系への電圧印加により同様な応答電流を得ることができる。この還元型電子受容体、フェロシアン化カリウムの場合、必要な電圧（酸化電位）は300mVであり、過酸化水素の場合の700mVの半分以下に抑制することができる。

上記説明中、電極系としては測定極および対極のみに言及したが特に精度を必要とする場合は、よく知られているように参考極を併設した構造が有効である。

#### 4. 図面の簡単な説明

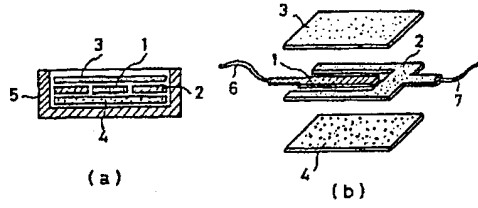
第1図は本発明の一実施例のバイオセンサを示す。同図(a)はその縦断面図、同図(b)はその主要部の分解図である。第2図は従来のバイオセンサの縦断面図である。

1. 9…測定極、2. 10…対極、3. 4…互

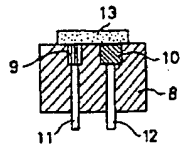
いに異なる種類の生体関連物質を担持させた多孔体よりなる層、13…酸化還元酵素を担持させた多孔体。

特許出願人 新日本無線株式会社

BEST AVAILABLE COPY



第 1 図



第 2 図

BEST AVAILABLE COPY

**THOMSON**  
**DELPHION**      **RESEARCH**      **PRODUCTS**      **INSIDE DELPHION**

Log On | Work Files | Saved Searches | My Account | Products      Search: Quick/Number Boolean Advanced Derwent

### The Delphion Integrated View

Get Now:  PDF | [More choices...](#)      Tools: Add to Work File:

View: [INPADOC](#) | Jump to:       Go to: [Derwent](#)

**Title:** JP4121652A2: BIOSENSOR

**Derwent Title:** Bio-sensor using different types of oxidn.-redn. enzymes - consists of electrode, counter electrode and porous layers to detect concn. changes electrochemically [\[Derwent Record\]](#)

**Country:** JP Japan  
**Kind:** A

**Inventor:** OKUMA KOICHI;

**Assignee:** NEW JAPAN RADIO CO LTD  
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)

**Published / Filed:** 1992-04-22 / 1990-09-13

**Application Number:** JP1990000241311

**IPC Code:** [G01N 27/327](#); [G01N 27/416](#);

**Priority Number:** 1990-09-13 JP1990000241311

**Abstract:** PURPOSE: To separate and measure the concns. of two or more kinds of substrates by one set of an electrode system by providing layers of porous bodies having mutually different biologically related substances supported thereon on both sides of an electrode system constituted of a substrate permeable porous body.

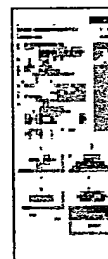
CONSTITUTION: When a sample solution containing glucose and pyruvic acid is dripped on a sensor, at first, glucose in the sample solution is decomposed in a triacetyl cellulose membrane 3 by glucose oxidase to generate hydrogen peroxide. Pyruvic acid in the sample solution is not reacted with glucose oxidase and passes through a measuring electrode 1 composed of conductively treated cloth containing a water absorbable polymer to reach the triacetyl cellulose membrane 4 under the electrode 1 and is decomposed by pyruvic acid oxidase to generate hydrogen peroxide. Since a time lag is generated between these reaction start times, pulse voltage is successively applied to the electrode system corresponding to the respective reaction start times and response currents are detected to measure the respective components.

COPYRIGHT: (C)1992,JPO&Japio

**INPADOC Legal Status:** None      **Get Now:** [Family Legal Status Report](#)

**Family:**

| PDF                                 | Publication | Pub. Date  | Filed      | Title     |
|-------------------------------------|-------------|------------|------------|-----------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | JP4121652A2 | 1992-04-22 | 1990-09-13 | BIOSENSOR |

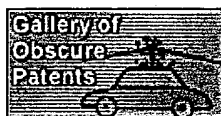


BEST AVAILABLE COPY

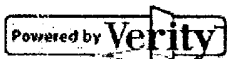
|                                     |             |            |            |
|-------------------------------------|-------------|------------|------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | JP2977258B2 | 1999-11-15 | 1990-09-13 |
| 2 family members shown above        |             |            |            |

Other Abstract Info:

CHEMABS 117(09)086326E CAN117(09)086326E DERABS C92-188120 DERC92-18:



Nominate this for the Gall



© 1997-2004 Thomson Research Subscriptions | Privacy Policy | Terms & Conditions | Site Map | Contact Us | F

BEST AVAILABLE COPY